

「疾患原因変異の機能解析」

【研究概要】

我々はこれまでに摂食障害の罹患同胞対家族を対象に全ゲノムエクソームを実施、corticotropin releasing hormone receptor 2 (CRHR2) 遺伝子上にアミノ酸置換を伴う変異を同定した。さらにこの変異を導入したマウスはメス特異的に青年期以降で不安様行動が増幅していた。CRHR2はストレスに関連する分子の受容体であり、摂食行動ならびに不安を制御するセロトニン及びオキシトシン産生を支配している。すなわち、CRHR2はこれらセロトニンおよびオキシトシン神経特異的な受容体である。また性ステロイドホルモンにより、メスで優位な構造を形成し機能する特定の神経核に、これらの神経が存在していると考えられる。したがって、CRHR2を介する神経ネットワークの異常が、摂食障害発症に関与していると示唆される。

【研究成果】

摂食障害原因遺伝子の機能解析から導き出した新たな仮説

(1) 学術的背景

神経性食欲不振症(AN)ならびに神経性過食症(BN)を含む摂食障害は食行動に重篤な障害を特徴とし、精神疾患の中でも死亡率が高く遺伝性がある。しかし有効な治療法が確立できていない。日本では10万人当たりの推定患者数はANで50-70人、BNで約30人、いずれも女性が90%以上、特にANは思春期前後で発症し、不安障害等の他の精神疾患の併存が多い。これまでに数万人のゲノムワイド関連解析が実施されたが、同定された10個弱の変異は、遺伝要素全体の1.7%しか説明できない。一方、摂食障害の遺伝学的な関連変異の探索において、この遺伝性に疑問が投げかけられる。A) 遺伝性は疾患の家族集積性により求められるが、両親の養育の影響を強く受けると考えられる本疾患では、実際よりも高く見積もられているのではないかと B) 欧米ならびにこれに類する生活様式の国々での罹患率が高く、発展途上国では低い事実は、遺伝要因が極めて小さいことを示しているのではないかと C) あらゆる疾患の中でも女性の性比が極めて高いが、遺伝学的に説明できるのか? すなわち、摂食障害の原因の多くは環境要因であり、ゲノム上に原因を求めるのは困難なのかもしれない。

(2) これまでの研究

摂食障害の生涯病型が同一である一卵性双生児での疾患の一致率は、二卵性よりも高く、一方、異なる病型では同程度であることに我々は着目した。そこでより遺伝性が高いと期待される生涯病型が一致している罹患同胞対を対象に、全ゲノムエクソームシーケンシングにより原因変異の網羅的探索を行った。その結果、corticotropin releasing hormone receptor 2 (CRHR2) 遺伝子上にアミノ酸置換を伴い、罹患同胞で一致し、生物学的機能が極めて強く示唆される変異を同定した(A. Oka et al. 2024 Heliyon 10 e28643)。この遺伝子がコードするタンパクはストレス応答に関与する、視床下部-下垂体-副腎(HPA)軸の調整因子であるコルチコトロピン放出因子(CRF)、及びストレス、不安、食物摂取を調節するウロコーチン(UCN)の受容体である。全遺伝子の中から前提無くこの遺伝子にたどり着いた意義は大きい。見出した変異は、細胞内シグナル伝達に重要な脂質ラフトとの結合部位にあり、さらに生物種間で高度に保存される機能性モチーフ上で、集団中で極めて稀な頻度(rs569607645)である。そこで、CRISPR/Cas9によりこの変異を導入したCchr2G751Aマウスを作製した。既報ではこの遺伝子のKOマウスは不安様行動が認められることからその検証を行った。Cchr2G751Aマウスのホモ接合、ヘテロ接合、野生型の遺伝型3種と性別の合計6群にて、不安様行動の解析に必須である高架式十字迷路(EPM)、オープンフィールド(OF)、ならびに明暗選択箱による行動解析を実施した。その結果、すべての試験で10週齢以降のメスの変異型マウスでのみ不安様行動が野生型と比較して有意に増幅していた(図1,2) (unpublished data)。

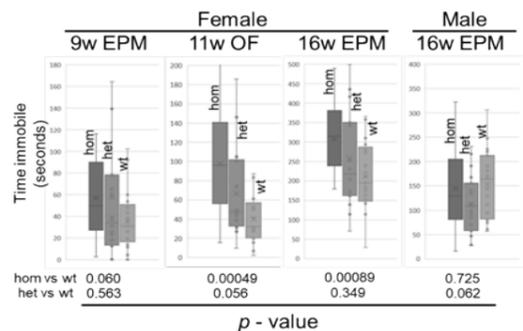


図1.EPMはclosed arm, OFは壁沿いでの各遺伝型グループの不動時間:不動時間が長いほど不安様行動が強い。同試験の異なる解析でも不安様行動が変異で増幅(OFの中央侵入回数等)。

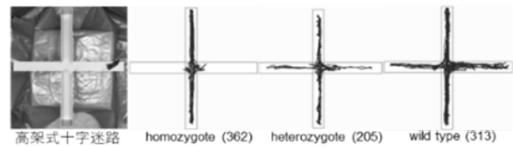
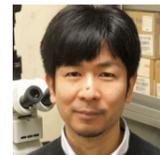


図2.EPM メス16週齢の軌跡の例:縦が壁のあるclosed arm, 横が解放している open arm

ゲノム解析研究部門



中川 草
Nakagawa So
分子生命科学 准教授



大塚 正人
Ohtsuka Masato
分子生命科学 教授



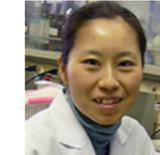
秦野 伸二
Hadano Shinji
生体機能学 教授



三浦 浩美
Miura Hiromi
分子生命科学 助教



鈴木 進吾
Suzuki Shingo
分子生命科学 講師



大友 麻子
Otomo Asako
生体機能学 講師



プロジェクトリーダー: 岡 晃
Oka Akira
医学部医学科基礎医学系分子生命科学 講師

(3) CRHR2、セロトニン・オキシトシン及び摂食障害

CRHR2はHPA軸の他にUCNの受容体としてもセロトニン及びオキシトシン神経特異的に発現している。セロトニン・オキシトシンは神経伝達物質かつホルモンとして機能するが、それぞれの神経でCRHR2がその産生を制御していると考えられている。セロトニンはドーパミン・ノルアドレナリンを制御し精神を安定させ、セロトニン神経は摂食行動や性行動などの本能行動をはじめ多岐にわたる機能を有している。オキシトシンは母子の絆などの対人関係における役割などに加え、ストレスと食物摂取の間の相互作用において役割を果たし、ストレス対処行動に寄与する。さらにセロトニンはオキシトシン濃度を増加させ、ドーパミンとオキシトシンの相互作用は脳の報酬回路の活動を調節する。

セロトニン神経は脳幹にある神経核の一種、縫線核にその細胞体があり脳のほぼ全域へ投射しているが、視床下部の神経核に投射する神経は摂食行動に関与する。CRHR2は背側縫線核(DRN)のセロトニン神経特異的に存在しており、この神経は分界条床核(BNST)に投射し、このBNSTは扁桃核など複数の大脳辺縁系に接続し、脅威の処理に重要な役割を果たし、恐怖や不安といった情動に関与する。一方、オキシトシン神経は視床下部室傍核にその細胞体があり、BNSTの垂核である背外側核(BNSTdl)へ投射し、神経の軸索末端でCRHR2が特異的に発現することでBNSTdlにおけるオキシトシン放出の制御している。さらに、BNSTに存在するCRHR2のストレスによる摂食行動の抑制機構への関与が明らかになっている(図3)。

神経核には形態学的な性差が存在し、性的二型核と呼ばれる神経核がある。その一つがBNSTでその垂核のBNSTdlが総ニューロン数や容積もメス優位であることからメス性的二型核であり(ラット)、成体になるまで性ステロイドホルモンの影響により発達する。一方、DRNの背側部位ではラットの生後8w-12wにかけてメス

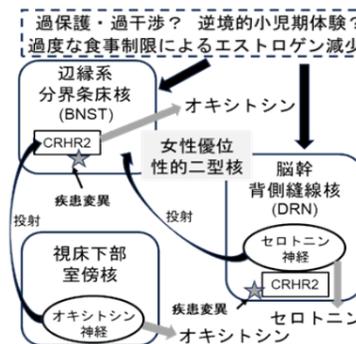


図3.神経核とセロトニン・オキシトシン神経

摂食障害患者はストレス関連情報を処理して、対処行動を創出する脳内でのプロセスに問題を生じている可能性があり、神経回路の異常がストレス対処行動の異常に繋がっているものと考えられている(Jpn J Psychosom med 57:790-6, 2017)。また実際に持続的なストレスは精神的あるいは器質的な障害を引き起こす(Folia Pharmacol. Jpn. 142, 210-4, 2013)。さらに、小児期にストレスをうけると脳内神経回路に機能的異常が生じると考えられ、その場合オキシトシン分泌が減少するとともにセロトニン作動性ニューロンが減少する可能性がある(ストレス科学研究 2014, 29, 120-1)。

(4) 新たな摂食障害発症機序仮説

「摂食障害は逆境的小児期体験などがストレス反応系を変調させ、機能不全に陥った食行動は、感情やストレスを調節しようとする試みである」との仮説があり、これはANおよびBNを含む摂食障害の根底にあるメカニズムを説明しうる可能性がある(Curr Neuropharmacol. 2018;16:1111-21.)。さらに、ANでは思春期の無理なダイエットによる低栄養状態がエストロゲンなどの放出の減少を引き起こす可能性が強く示唆されている。ここまで述べたことを考慮すると以下のことが推定され、前述の「疑問」への回答となる。

マウスは8週齢前後でメスは性成熟を迎える。Cchr2G751Aマウスはメスの性成熟後より不安様行動が増幅することから、生後青年期にかけてメス優位となる性的二型核のBNST及びCchr2の発現量がメス優位なDRNにおいて、その変異によりCchr2の機能に影響がある可能性が示唆される。さらに、その変異に相当する環境要因としてのインパクトは、親の過干渉や逆境的小児期体験ならびに食事制限によるエストロゲンの減少により、性的二型核への器質的な影響を引き起こすのではないかと考えた。種々のストレスなどによる神経核などへの影響は様々なパターンがあると想定されるが、結果として女性優位な性的二型核が影響を受けた場合は本疾患発症の可能性が高くなるのかもしれない。また、思春期に体形を気にして気軽に始めたダイエットが、その神経核に器質的な影響を与えてしまい、自ら抜け出せない拒食のループとなる可能性も考えられる。最終的には、CRHR2がセロトニン・オキシトシンの制御分子としての機能に不調を生じさせ、本疾患を発症させる病因になると考えている。